

# 白细胞介素 17 在糖尿病大血管中的表达及白藜芦醇的干预机制

楼旭丹 汪海东 夏世金 顾芹

**【摘要】 目的** 研究糖尿病大鼠主动脉白细胞介素 17(IL-17)的表达及白藜芦醇的干预效应,并从表观遗传学角度探讨 IL-17 参与糖尿病血管病变的潜在机制和白藜芦醇的保护性机制。**方法** 将 100 只 SD 大鼠分为对照组(NC)、正常干预组(NB)、糖尿病组(DM)和糖尿病干预组(DB),NB 和 DB 组用白藜芦醇进行干预,通过免疫组化对 IL-17 表达进行组织学定位并测量大鼠腹主动脉壁厚,采用 Western 印迹、实时 PCR 及甲基化特异性 PCR 技术,分别比较各组大鼠主动脉 IL-17 蛋白、mRNA 及基因启动子区 DNA 甲基化水平的差异。**结果** 免疫组化染色显示 IL-17 主要表达于 DM 组大鼠主动脉内膜,DM 组与 NC 和 DB 组相比腹主动脉壁明显增厚( $P < 0.05$ );DM 组 IL-17 蛋白及 mRNA 表达水平较 NC 组增高( $P < 0.05$ ),而 NB 和 DB 组则分别较 NC 和 DM 组下调;同时 DM 组 IL-17DNA 甲基化水平显著低于 NC 组( $P < 0.01$ ),而 NB 和 DB 组甲基化水平分别较 NC 和 DM 组上调。**结论** 糖尿病大鼠主动脉 IL-17 表达增强,提示 IL-17 参与糖尿病大血管病变的炎症反应过程,白藜芦醇可抑制 IL-17 的表达,可能对糖尿病大血管病变有保护作用,两者的发生机制可能通过调控 IL-17 基因启动子区 DNA 甲基化水平来实现。

**【关键词】** 白细胞介素 17;糖尿病大血管病变;白藜芦醇;DNA 甲基化

## Expression of interleukin-17 in diabetic macroangiopathy and the mechanism of intervention with resveratrol

LOU Xu-dan, WANG Hai-dong, XIA Shi-jin, GU Qin. Department of Endocrinology, Huadong Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Corresponding author: WANG Hai-dong, Email: wanghaidong@medmail.com.cn

**【Abstract】 Objective** To study the expression of interleukin-17 (IL-17) in diabetic rat aorta and the effect of intervention with resveratrol, meanwhile, to explore the potential mechanisms of IL-17 induced diabetic vascular diseases and the protective role played by resveratrol in the epigenetic field. **Methods** The experiment was carried out in 4 groups: normal control group (NC), normal interventional group (NB), diabetic group (DM), and diabetic interventional group (DB), NB and DB groups were intervened with resveratrol. Immunohistochemistry was used to observe the histological localization of IL-17 and to measure the thickness of rat abdominal aorta. Western blotting, real-time PCR, and methylation-specific PCR were used respectively to compare the expression of IL-17 protein and mRNA, as well as DNA methylation in 4 groups. **Results** IL-17 mainly expressed in arterial intima of diabetic rats, the abdominal aorta in DM group was obviously thicker than that in NC and DB groups ( $P < 0.05$ ). IL-17 protein and mRNA expressions in DM group were significantly higher than NC group ( $P < 0.05$ ), and were reduced in NB and DB groups compared with NC and DM groups respectively. While DNA methylation levels of IL-17 in DM group were significantly lower than NC group ( $P < 0.01$ ), however, the levels in NB and DB groups were elevated accordingly as compared with corresponding groups. **Conclusions** The increased levels of IL-17 in aorta of diabetic rats suggests that IL-17 is involved in the process of inflammatory responses to diabetic macrovascular diseases, while resveratrol could inhibit the expression, it may play a role in protecting aorta, and the regulation of IL-17 gene promoter DNA methylation levels may be the potential mechanism underlying these two phenomena.

**【Key words】** Interleukin-17; Diabetic macroangiopathy; Resveratrol; DNA methylation

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29; 700-704)

白细胞介素 17(interleukin-17, IL-17)是目前新发

现的促炎性细胞因子,主要由初始 CD4+T 细胞诱导分化的新型效应性 Th17 细胞产生<sup>[1]</sup>。近年来,越来越多的证据显示 IL-17 与动脉粥样硬化性血管疾病相关,但在糖尿病大血管病变中是否发挥作用尚不明了,本研究拟通过检测糖尿病大鼠主动脉 IL-17 蛋白的表达,以及对 IL-17mRNA 的定量测定,明确 IL-17 与糖尿病大血管病变之间的相关性。白藜芦醇是近年研究热

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2013.08.016

基金项目:上海市科委科技发展基金基础研究重点课题(10JC1404800),国家自然科学基金面上项目(31171129)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华东医院内分泌科(楼旭丹、汪海东、顾芹);复旦大学附属华东医院、上海市老年医学研究所(夏世金)

通信作者:汪海东,Email: wanghaidong@medmail.com.cn

点,具广泛的生物学功能,本实验以白藜芦醇作为干预因素,首次探索其对糖尿病大血管组织的保护作用,为白藜芦醇在预防和治疗糖尿病血管病变中的应用提供新的理论依据。同时,本研究还通过甲基化特异性 PCR 技术检测 IL-17 基因启动子区 DNA 甲基化水平,进一步探索 IL-17 参与糖尿病血管病变的潜在机制和白藜芦醇的保护性机制。

### 材料和方法

#### 一、材料

2 周龄健康雄性 SD 大鼠(体重 160 g 左右)100 只,由复旦大学实验动物科学部提供;基础鼠料总热量 6.941 J/g,蛋白质占 23%、碳水化合物占 53%、脂肪占 5%,均购自中国医学科学院动物实验中心;肥甘饲料由基础鼠料加蔗糖、炼猪油和鸡蛋充分混匀后,用搅肉机成形、烤熟后备用,其总热量为 21.33 J/g,其中蛋白质占 15%、碳水化合物占 51%、脂肪占 25%。

免疫组化试剂盒购自北京康为生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒, Rippa 蛋白裂解液, 附带 PMSF 蛋白酶抑制剂, 购自上海申能博采试剂公司;30% 聚丙烯酰胺由 Acr 和 Bis 按一定比例配置,此二试剂购自北京博大泰克公司;PVDF 膜(孔径 0.45 $\mu$ m)购自 Millpro 公司;AB 显影液购自 Tiangen 公司;一抗购自 Abcam 公司,二抗购自 Cellsignaling 公司;巯基乙醇、溴酚蓝、PBS 粉剂购自一般化学商店;PCR 试剂购自 TaKaRa 公司;DNA 抽提试剂盒购自上海生工;甲基化试剂盒购自 Zymo Research 公司。

#### 二、方法

1. 分组:选择健康活泼、体重相近的 2 周龄 SD 雄性大鼠分为糖尿病造模组和正常组两大组。造模组 65 只,给予肥甘饲料喂养 4 周后,按 30 mg/kg 体重的剂量腹腔内注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ;溶于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液, pH4.4),1 次/天,连续 2 天,剪尾取血后测定血糖以非禁食血糖  $\geq 16.7$  mmol/L 为标准判定糖尿病大鼠模型是否成功;再随机分 2 组,分别给予肥甘饲料+白藜芦醇 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  d<sup>-1</sup>灌胃[糖尿病干预组(DB组), n=25]和肥甘饲料+等量生理盐水灌胃[糖尿病组(DM组), n=29]。另外 35 只正常组大鼠给予基础饲料喂养 4 周后腹腔注射等量柠檬酸缓冲液,也分为 2 组,分别给予基础饲料+白藜芦醇 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  d<sup>-1</sup>灌胃[正常干预组(NB组), n=16]和基础饲料+等量生理盐水灌胃[对照组(NC组), n=19]。10 周后将各组大鼠断头处死,取各组大鼠主动脉留作后续实验。

2. 免疫组化染色:采用 SP Rabbit & Mouse HRP 试

剂盒,将四组大鼠主动脉常规石蜡切片 2~3  $\mu$ m,二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,在专用塑料染色缸中装 250 ml pH6.0 的柠檬酸缓冲液,煮沸,放入切片后再煮 20 min 修复抗原,保温 10 min 后冷却至室温。PBS 冲洗 3 次,用二抗同源血清进行封闭,随后滴加一抗 50  $\mu$ l,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,二抗 50  $\mu$ l 室温孵育 30 min。DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明及封片。在高倍镜下观察,并测量大鼠腹主动脉壁厚。

3. Western 印迹检测大鼠主动脉 IL-17 表达水平:4 组大鼠主动脉分别称取 50 mg,加入蛋白裂解液 100  $\mu$ l,4 $^{\circ}$ C、12 000 转/min $\times$ 30 min,吸取上清。BCA 试剂盒测定蛋白浓度,用裂解缓冲液调整每管蛋白浓度至均值,经 2-巯基乙醇、加热处理后上样。每孔 80  $\mu$ l,5% 浓缩胶运行电压 60 V,到达 10% 分离胶界面将电压调升至 100 V,电泳时间约 2 h。PVDF 膜在转印液中平衡 10 min 后以 90 V 电压电转 1.5 h。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 以,加入 1:1 000 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,用 PBS-T 洗膜 10 min $\times$ 3 次,以 HRP 标记的二抗(1:10 000)结合一抗,室温下 2 h。洗膜后加入 AB 显影液,用 ImageJ 分析软件将图片上每个特异条带灰度值数字化,进行定量分析。

4. RT-PCR 检测大鼠主动脉 IL-17mRNA 表达水平:按照 Trizol 试剂说明书提取大鼠主动脉总 RNA。将引物 Oligo(dT)<sub>18</sub> 1  $\mu$ l, RNA 模板 3  $\mu$ l, RNase-free 水 8  $\mu$ l(总体积 12  $\mu$ l)置于 65 $^{\circ}$ C 水浴箱 5 min,再依次加入 5 $\times$ 逆转录缓冲液 4  $\mu$ l, RNA 酶抑制剂 1  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTP 2  $\mu$ l 及逆转录酶 1  $\mu$ l,42 $^{\circ}$ C 反应 60 min,反应产物即 cDNA。PCR 反应体系(25  $\mu$ l):上下游引物各 0.5  $\mu$ l, cDNA 0.5  $\mu$ l, SYBR green supermix 12.5  $\mu$ l, RNase-free 水 11  $\mu$ l,进行 40 个 PCR 循环(94 $^{\circ}$ C, 30 s;55 $^{\circ}$ C, 30 s;72 $^{\circ}$ C, 30 s),72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。得到溶解曲线、扩增曲线及目的基因和管家基因的  $\Delta$ Ct 值,对目的基因的表达进行相对定量测定。RT-PCR 使用引物序列见表 1。

5. 甲基化特异性 PCR 技术检测 IL-17 基因甲基化:使用 DNA 抽提试剂盒提取大鼠主动脉 DNA,并按

表 1 RT-PCR 引物  
Tab 1 Primers for RT-PCR

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	产物长度 Product length (bp)
IL-17	F: 5'-ATTCATCCATGTGCTGATGCTG-3' R: 5'-CGGCGTTTGGACACTGAACCTT-3'	100
$\beta$ -actin	F: 5'-TTGCTGACAGGATGCAGAAGGAGA-3' R: 5'-ACTCCTGCTTGCTGATCCACATCT-3'	159

注:IL-17:白细胞介素 17 Interleukin-17;F:上游 Forward;R:下游 Reverse

说明书对 DNA 进行亚硫酸氢盐修饰。采用 Prime 5.0 软件,根据 IL-17 基因启动子 CpG 岛区域设计甲基化引物(M):上游引物为 5'-TAGGAATTATTGAGATGGA-GTTTATC-3',下游引物为 5'-TATTTTTCTAAAATTA-AAACCGAA-3',产物大小为 110 bp;非甲基化引物(U):上游引物为 5'-TAGGAATTATTGAGATGGAGTTT-ATTG-3',下游引物为 5'-ATTTTTCTAAAATTAATAA-CCAAA-3',产物大小为 109 bp。每份修饰后的样本均同时用甲基化和非甲基化引物进行扩增,采用 25 μl 热启动 PCR。2% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,紫外光凝胶成像系统观察结果,ImageJ 软件分析灰度值。

### 三、统计学处理

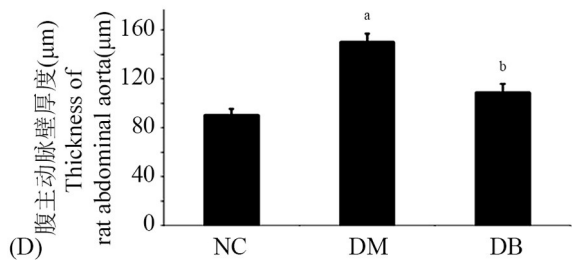
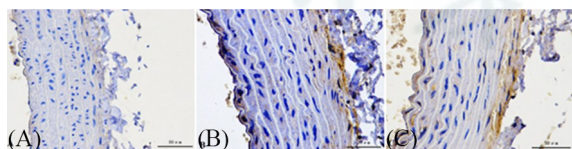
数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 12.0 统计软件进行分析,组间比较用单因素方差分析,两两比较用 SNK-q 检测, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、IL-17 表达的组织学定位(图 1)

免疫组化染色显示 IL-17 主要表达于 DM 组主动脉内膜,以 NC 组为对照,DM 组内膜明显深染,病变累及范围更加广泛。DB 组 IL-17 在内膜的表达较 DM 组相对减少,提示白藜芦醇可抑制 IL-17 在糖尿病大鼠主动脉内膜的表达,使组织受累减轻。对各组大鼠腹主动脉壁进行测量,结果显示 NC 组为  $(90.61 \pm 4.62) \mu\text{m}$ ,DM 组为  $(150.52 \pm 6.40) \mu\text{m}$ ,DB 组为  $(108.84 \pm 7.19) \mu\text{m}$ ,DM 组大鼠腹主动脉壁较 NC 和 DB 组显著增厚,组间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

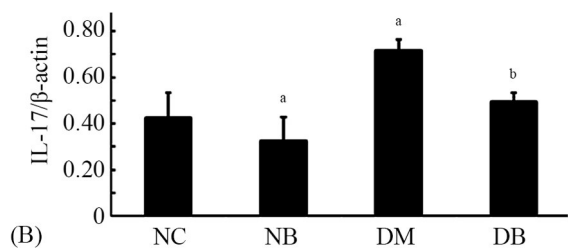
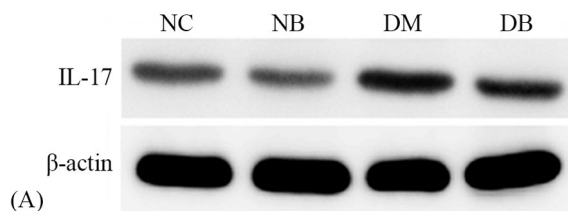
二、4 组大鼠主动脉 IL-17 蛋白及 mRNA 表达水平比较(图 2、图 3)



注:(A)-(C)免疫组化 Immunohistochemistry;(A) NC:对照组 Normal control;(B) DM:糖尿病组 Diabetes mellitus;(C) DB:糖尿病干预组 Diabetic rats treated with resveratrol; $vs$  NC,  $^a P < 0.05$ ;  $vs$  DM,  $^b P < 0.05$

图 1 大鼠腹主动脉壁厚度比较

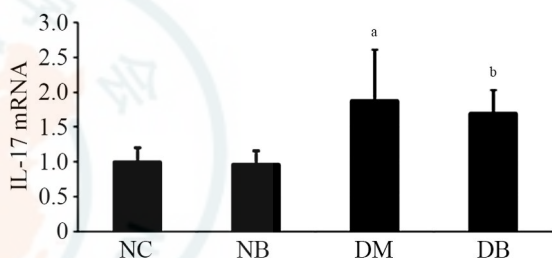
Fig 1 Comparison of aorta thickness of rats



注:NC:对照组 Normal control;NB:正常干预组 Normal rats treated with resveratrol;DM:糖尿病组 Diabetes mellitus;DB:糖尿病干预组 Diabetic rats treated with resveratrol; $vs$  NC,  $^a P < 0.05$ ;  $vs$  DM,  $^b P < 0.05$

图 2 大鼠主动脉白细胞介素 17 蛋白表达

Fig 2 Protein expression of interleukin-17 in rat aorta



注:NC:对照组 Normal control;NB:正常干预组 Normal rats treated with resveratrol;DM:糖尿病组 Diabetes mellitus;DB:糖尿病干预组 Diabetic rats treated with resveratrol; $vs$  NC,  $^a P < 0.05$ ;  $vs$  DM,  $^b P < 0.05$

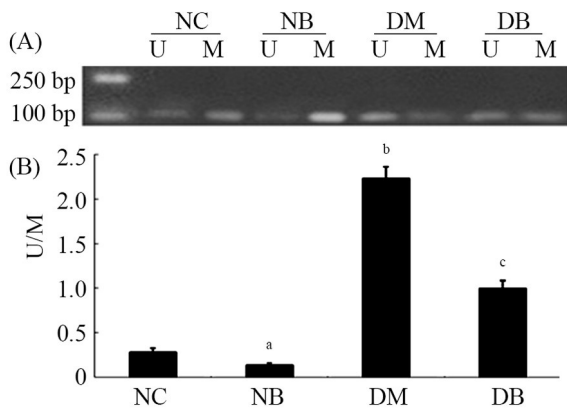
图 3 大鼠主动脉白细胞介素 17 mRNA 表达比较

Fig 3 Expression of interleukin-17 mRNA in rat aorta

Western 印迹结果显示 DM 组 IL-17 表达水平显著高于 NC 组 ( $P < 0.05$ ),NB 和 DB 组则分别低于 NC 和 DM 组 ( $P < 0.05$ ), $\beta$ -actin 作为内参在 4 组中表达不受影响。IL-17 mRNA 在各组的表达趋势基本与蛋白水平一致,DM 组表达较 NC 和 DB 组显著增高 ( $P < 0.05$ ),NB 组表达最低,但与 NC 组的差异无统计学意义。可见 IL-17 基因的过度表达可能在糖尿病大血管病变的连锁反应中起着重要作用,白藜芦醇减弱 IL-17 表达的效应提示其可能干预糖尿病大血管病变的发生发展。

三、4 组大鼠主动脉 IL-17 基因启动子区 DNA 甲基化水平比较(图 4)

由 IL-17 mRNA 表达结果,进一步推测 IL-17 参与糖尿病大血管病变及白藜芦醇具血管保护效应的发生机制可能在基因调控水平。通过甲基化特异性 PCR 检测,DM 组非甲基化与甲基化产物灰度系数比显著高于 NC 组,分别为  $2.231095 \pm 0.128975$  和  $0.282684 \pm 0.040571$  ( $P < 0.01$ )。NB 组 ( $0.137847 \pm 0.014682$ ) 低于 NC 组 ( $P < 0.05$ ),DB 组 ( $0.998574 \pm$



注:NC:对照组 Normal control;NB:正常干预组 Normal rats treated with resveratrol;DM:糖尿病组 Diabetes mellitus;DB:糖尿病干预组 Diabetic rats treated with resveratrol;U:非甲基化 Non-methylation;M:甲基化 Methylation;vs NC, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ;vs DM, <sup>c</sup> $P < 0.01$

图4 大鼠主动脉白细胞介素 17 基因启动子区 DNA 甲基化比较  
Fig 4 Interleukin-17 gene promoter DNA methylation in rat aorta

0.083 165) 低于 DM 组 ( $P < 0.01$ ), 表明 DM 组 IL-17 DNA 甲基化水平较 NC 组明显减低, 而白藜芦醇的干预可促进甲基化修饰。

## 讨 论

IL-17 最初被认为主要由初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞诱导分化的新型效应性 Th17 细胞产生, 后来发现在 CD8<sup>+</sup>T 细胞、TCR+CD4-CD8-的胸腺细胞、嗜酸性粒细胞、上皮细胞甚至在血管内皮细胞中均有不同程度的表达<sup>[2]</sup>。IL-17 是中性粒细胞介导的炎症反应中最重要的细胞因子, 与组织细胞的特异性受体 (IL-17R) 结合后通过 PI3K-Akt-ERK 依赖途径、p38MAPK 途径等多条炎症信号传导通路<sup>[3-5]</sup> 促使 TNF- $\alpha$ 、IL-6、NF- $\kappa$ B、基质细胞源性因子 (stromal cell-derived factor, CXCL) 等表达增强<sup>[6]</sup>, 被认为与局部组织炎症反应和自身免疫性疾病密切相关。已有研究表明在 1 型糖尿病胰岛炎发生的病理过程中, IL-17 表达明显增加<sup>[7]</sup>, 并可通过一氧化氮 (NO) 依赖途径对胰岛  $\beta$  细胞产生毒性作用<sup>[8]</sup>。我们前期研究工作证实在自身免疫性糖尿病小鼠发病初期, IL-17 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高; 借助转基因技术建立高表达 IL-17 的 T 细胞株, 证实了 IL-17 可加速自身免疫性糖尿病 NOD 小鼠胰岛炎和糖尿病的发生, TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6 均参与此病理过程<sup>[9,10]</sup>。此外, Gao 等<sup>[11]</sup> 指出 IL-17 能增加颈动脉血管平滑肌细胞基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases-9, MMPs-9) 合成, 促进细胞迁移, 加速血管重构和动脉硬化; Eid 等<sup>[12]</sup> 发现冠状动脉壁浸润的 T 细胞能产生 IL-17 和 IFN- $\gamma$ , 二者协同诱导血管平滑肌细胞炎症反应的发生; IL-17 还能促进血管紧张素 II 诱导的高血压和血管功能异常, 导致动脉粥样硬

化性疾病的发生<sup>[13]</sup>。本实验在此基础上通过免疫组化发现 IL-17 在 DM 组大鼠主动脉内膜表达显著, 且 DM 组大鼠腹主动脉壁较 NC 组明显增厚, 表明血管组织受累严重, 病变可能始于内皮细胞功能障碍; 进一步检测各组大鼠主动脉 IL-17 蛋白及 mRNA 表达水平, 均提示 IL-17 参与糖尿病大血管病变的炎症反应过程。

Wren 等<sup>[14]</sup> 通过 Data-Mining 分析发现导致糖尿病及并发症的诸多因素中“甲基化”和“染色质”的统计得分最高, 为糖尿病发生发展的重要原因。针对 IL-17 的致病机制, 我们因此对其基因启动子区 DNA 甲基化水平进行了相关研究。DNA 甲基化修饰主要发生在 CpG 双核苷酸序列的胞嘧啶上, 在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 的催化下, 以 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl-methionine, SAM) 为供体, 将甲基 (-CH<sub>3</sub>) 转移至胞嘧啶的第 5 位碳原子上, 形成 5-甲基胞嘧啶 (5-mC)<sup>[15]</sup>。DNA 甲基化可通过直接阻碍与转录因子结合, 与其他转录复合抑制因子相互作用或招募组蛋白修饰酶改变染色质结构而与基因沉默相关<sup>[16,17]</sup>。有研究显示胰岛相关基因 CpG 岛的高甲基化可导致胰岛  $\beta$  细胞功能受损, 胰岛素分泌障碍<sup>[18,19]</sup>。糖尿病心血管和肾脏疾病也有相关甲基化模式的改变, 并且作用方式相当复杂<sup>[20]</sup>。本研究结果显示 DM 组大鼠主动脉 IL-17 基因甲基化水平显著低于 NC 组, 并与 IL-17 的表达呈负相关, 提示高糖影响基因启动子区 CpG 位点的甲基化可能是 IL-17 表达增强并诱发血管病变的潜在机制。最近的一项研究表明 1 型糖尿病相关的 DNA 甲基化位点改变在疾病诊断之前即可出现, 提示 DNA 甲基化可能成为糖尿病早期诊断和管理的一项临床指标<sup>[21]</sup>。IL-17 还可能存在其他表观遗传修饰甚至其他作用机制, 但作为可逆的动力学过程, 对 IL-17 DNA 甲基化进行药物干预有望成为靶向治疗糖尿病大血管病变的有效方法。

本次研究中明确观察到 DB 组 IL-17 在大鼠主动脉内膜的表达较 DM 组减少, 大鼠腹主动脉壁增厚程度不明显, 血管病变减轻。同时 NB 和 DB 组 IL-17 蛋白及 mRNA 表达水平分别较 NC 和 DM 组下降, 而 IL-17 基因启动子区 DNA 甲基化水平则相应增高, 表明白藜芦醇可抑制大鼠主动脉 IL-17 的表达, 可能在高糖环境中对血管组织仍有保护作用, 而该作用很可能通过上调 IL-17 基因启动子区 CpG 位点的甲基化来实现。白藜芦醇最初发现于红葡萄和其他水果的外皮中, 它具有类似植物抗生素一样的作用, 保护葡萄不受细菌的侵害<sup>[22]</sup>。近来研究发现, 白藜芦醇具有抗炎、抗氧化、抗细胞增殖和凋亡等效应<sup>[23]</sup>, 可抑制血管紧

张素 II 介导的心肌细胞肥大,促进血管再生和侧枝循环建立,对心脏和血管具有保护作用<sup>[24]</sup>。在 STZ 诱导的糖尿病动物模型中,白藜芦醇可通过提高抗氧化酶活性和降低血糖水平改善心肌纤维化和血管功能异常<sup>[25-29]</sup>。本实验进一步指出白藜芦醇具有针对 IL-17 的抗炎性作用,为白藜芦醇在预防和治疗糖尿病血管病变中的应用提供了新的理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol*, 2005, 6:1123-1132.
- [2] 戴小波. IL-17 免疫调节作用的研究进展. *检验医学与临床*, 2011, 8:732-735.
- [3] Martel-Pelletier J, Mineau F, Jovanovic D, et al. Mitogenactivated protein kinase and nuclear factor kappaB together regulate interleukin-17-induced nitric oxide production in human osteoarthritic chondrocytes: possible role of transactivating factor mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase (MAPKAPK). *Arthritis Rheum*, 1999, 42:2399-2409.
- [4] Venkatchalam K, Mummidu S, Cortez DM, et al. Resveratrol inhibits high glucose-induced PI3K/Akt/ERK-dependent interleukin-17 expression in primary mouse cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294:H2078-H2087.
- [5] Patel DN, King CA, Bailey SR, et al. Interleukin-17 stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and C/EBPbeta activation. *J Biol Chem*, 2007, 282:27229-27238.
- [6] Broxmeyer HE. Is interleukin 17, an inducible cytokine that stimulates production of other cytokines, merely a redundant player in a sea of other biomolecules? *J Exp Med*, 1996, 183:2411-2415.
- [7] Vukkadapu SS, Belli JM, Ishii K, et al. Dynamic interaction between T cell-mediated beta-cell damage and beta-cell repair in the run up to autoimmune diabetes of the NOD mouse. *Physiol Genomics*, 2005, 21: 201-211.
- [8] Miljkovic D, Cvetkovic I, Momcilovic M, et al. Interleukin-17 stimulates inducible nitric oxide synthase-dependent toxicity in mouse beta cells. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62:2658-2668.
- [9] 汪海东, 孙皎, 夏世金. 白细胞介素 17 介导致糖尿病性 T 细胞诱导的 NOD 小鼠糖尿病的发生. *中华内分泌代谢杂志*, 2009, 10: 539-543.
- [10] 汪海东, 孙皎, 夏世金. IL-17 和 siRNA IL-17 基因逆转录病毒载体的构建及其转染致糖尿病性 T 细胞中 IL-17 的表达. *中国老年学杂志*, 2009, 29:2873-2876.
- [11] Cheng G, Wei L, Xiurong W, et al. IL-17 stimulates migration of carotid artery vascular smooth muscle cells in an MMP-9 dependent manner via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and AP-1 activation. *Cell Mol Neurobiol*, 2009, 29:1161-1618.
- [12] Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation*, 2009, 119:1424-1432.
- [13] Madhur MS, Lob HE, McCann LA, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2010, 55:500-507.
- [14] Wren JD, Garner HR. Data-mining analysis suggests an epigenetic pathogenesis for type 2 diabetes. *J Biomed Biotechnol*, 2005, 2005: 104-112.
- [15] Chen ZX, Riggs AD. DNA methylation and demethylation in mammals [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286:18347-18353.
- [16] Attwood JT, Yung RL, Richardson BC. DNA methylation and the regulation of gene transcription. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59:241-257.
- [17] Fuks F. DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15:490-495.
- [18] Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, Simmons RA. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest*, 2008, 118: 2316-2324.
- [19] Ling C, Del Guerra S, Lupi R, et al. Epigenetic regulation of PPARC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*, 2008, 51:615-622.
- [20] 楼旭丹, 汪海东, 夏世金, 等. 表观遗传学在糖尿病血管病变中的研究进展. *中华内分泌代谢杂志*, 2013, 29:180-184.
- [21] Rakyan VK, Beyan H, Down TA, et al. Identification of type 1 diabetes-associated DNA methylation variable positions that precede disease diagnosis. *PLoS Genet*, 2011, 7:e1002300.
- [22] 楼旭丹, 汪海东, 夏世金. 白藜芦醇抗衰老研究新进展. *成都医学院学报*, 2012, 7:352-355.
- [23] Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, et al. Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43:720-729.
- [24] Cheng TH, Liu JC, Lin H, et al. Inhibitory effect of resveratrol on angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2004, 369:239-244.
- [25] Wang S, Wang X, Yan J, et al. Resveratrol inhibits proliferation of cultured rat cardiac fibroblasts: correlated with NO-cGMP signaling pathway. *Eur J Pharmacol*, 2007, 567:26-35.
- [26] 龙红梅, 王晓, 李凤英, 等. 白藜芦醇对原代大鼠胰岛葡萄糖刺激的胰岛素分泌的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2010, 26:495-497.
- [27] 陈璐璐, 张好好, 郑涓, 等. 白藜芦醇对高脂饮食大鼠骨骼肌不同线粒体亚群氧化、抗氧化水平和胰岛素敏感性的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28:58-62.
- [28] 吴丽娜, 秦贵军, 张娜, 等. 白藜芦醇对糖尿病大鼠肾脏叉头转录因子 O1 表达的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28:423-425.
- [29] 秦贵军, 吉鸿飞, 张伟伟, 等. 白藜芦醇对波动性高糖培养的大鼠肾小球系膜细胞脂联素受体表达的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28:661-665.

(收稿日期:2013-04-11)

(本文编辑:朱铨达)